

(12) NACH DEM VERTRÄG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG



(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro

(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
15. November 2001 (15.11.2001)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 01/85758 A2

(51) Internationale Patentklassifikation:

C07K 1/00

(84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(21) Internationales Aktenzeichen:

PCT/EP01/05416

(22) Internationales Anmeldedatum:

11. Mai 2001 (11.05.2001)

(25) Einreichungssprache:

Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache:

Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:

00110039.5 12. Mai 2000 (12.05.2000) EP

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): LONZA AG [CH/CH]; Münchensteinerstrasse 38, CH-4052 Basel (CH).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): MEININGHAUS, Carsten [DE/CH]; Terbinerstrasse 73, CH-3930 Visp (CH).

(74) Gemeinsamer Vertreter: LONZA AG; Münchensteinerstrasse 38, CH-4052 Basel (CH).

(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VN, YU, ZA, ZW, ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG)

Erklärungen gemäß Regel 4.17:

- hinsichtlich der Berechtigung des Anmelders, ein Patent zu beantragen und zu erhalten (Regel 4.17 Ziffer ii) für die folgenden Bestimmungsstaaten AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VN, YU, ZA, ZW, ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG)
- Erfindererklärung (Regel 4.17 Ziffer iv) nur für US

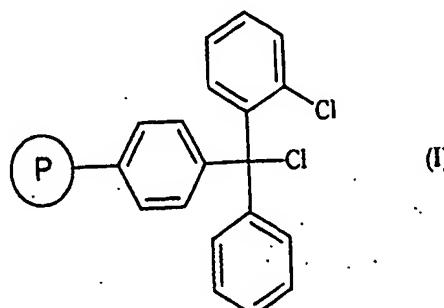
Veröffentlicht:

- ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(54) Titel: METHOD FOR PRODUCING POLYMER-BONDED 2-CHLOROTRITYL CHLORIDE

(54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUR HERSTELLUNG VON POLYMERGEBUNDENEM 2-CHLOROTRITYLCHLORID



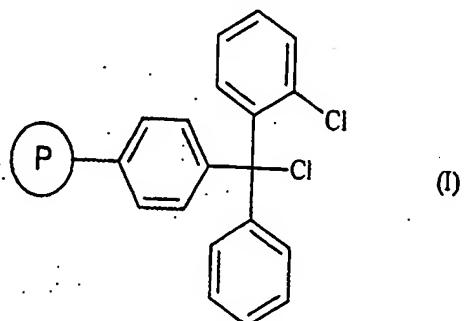
(57) Abstract: The invention relates to a method for producing polymer-bonded 2-chlorotriptyl chloride of formula (I), wherein P means a polymer support, preferably cross-linked polystyrene, by reacting a corresponding carboxylic acid with hydrogen chloride. The method enables the support resin from the solid-phase peptide synthesis produced after the splitting-off of the peptide to be re-used.

(57) Zusammenfassung: Beschrieben wird ein Verfahren zur Herstellung von polymergebundenem 2-Chlortriptylchlorid der Formel (I), worin P einen polymeren Träger, vorzugsweise vernetztes Polystyrol, bedeutet durch Umsetzung eines entsprechenden Carbonsäureesters mit Chlorwasserstoff. Das Verfahren ermöglicht die Wiederverwertung des nach der Abspaltung des Peptids anfallenden Trägerharzes der Festphasen-Peptidsynthese.

Verfahren zur Herstellung von polymergebundenem 2-Chlortriptychlorid

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von polymergebundenem 2-Chlortriptychlorid der Formel

5

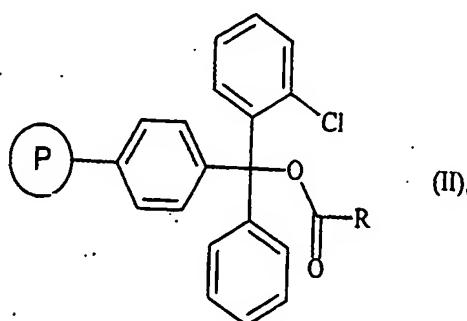


worin das Symbol einen polymeren Träger und vorzugsweise ein vernetztes Polystyrolharz bedeutet.

10

Polymergebundenes 2-Chlortriptychlorid ist ein kommerziell erhältliches (Calbiochem-Novabiochem AG, Läufelfingen, Schweiz, Produkt Nr. 01-64-0021) Reagenz zur Festphasensynthese von Peptiden. Es wird hierbei zunächst mit einer N-geschützten Aminosäure, die den C-Terminus des zu synthetisierenden Peptids bildet, zu dem entsprechenden 15 Triptylester umgesetzt. Nach Aufbau der Peptidkette wird das Peptid durch Behandlung mit einer Carbonsäure, beispielsweise verdünnter Trifluoressigsäure oder Essigsäure, abgespalten, wobei sich der entsprechende polymergebundene Triptylester der Formel

15



BESTÄTIGUNGSKOPIE

worin R eine C₁₋₄-Alkyl- oder C₁₋₄-Haloalkylgruppe und vorzugsweise Methyl oder Trifluormethyl bedeutet, bildet. Das Harz ist damit verbraucht und kann in dieser Form nicht mehr zu weiteren Synthesen eingesetzt werden.

5 Unter C₁₋₄-Alkyl sind hier und im Folgenden alle Alkylgruppen mit 1 bis 4 Kohlenstoff-
atomen zu verstehen, also Methyl, Ethyl, Propyl, Isopropyl, Butyl, Isobutyl, *sec*-Butyl und
tert-Butyl. Unter C₁₋₄-Haloalkyl sind entsprechend alle C₁₋₄-Alkylgruppen mit einem oder
mehreren gleichen oder verschiedenen Halogenatomen als Substituenten zu verstehen,
vorzugsweise perfluorierte C₁₋₄-Alkylgruppen wie Trifluormethyl.

10 Aufgabe der vorliegenden Erfindung war daher, ein Verfahren bereitzustellen, das aus dem
nach Abspaltung des Peptids anfallenden acyloxylierten Harz (II) wieder das polymer-
gebundene 2-Chlortriylchlorid regeneriert, welches dann erneut zu Peptidsynthesen ver-
wendet werden kann.

15 Erfindungsgemäss wird diese Aufgabe durch das Verfahren nach Patentanspruch 1 gelöst.

Es wurde gefunden, dass durch einfaches Behandeln des acyloxylierten Harzes (II)
mit Chlorwasserstoff in einem organischen Lösungsmittel das polymergebundene 2-Chlor-
20 triylchlorid (I) regeneriert werden kann. Da es sich bei dem Austausch von Carboxylat
gegen Chlorid offenbar um eine Gleichgewichtsreaktion handelt, wird die Behandlung
vorteilhaft mehrmals mit frischem Lösungsmittel wiederholt, um die freigesetzte Carbon-
säure aus dem System zu entfernen und so einen vollständigen Austausch zu erzielen. Es
ist auch möglich, eine Packung des acyloxylierten Harzes (II) mit einer Lösung von
25 Chlorwasserstoff zu perkolieren, bis das Carboxylat vollständig gegen Chlorid
ausgetauscht ist.

Als Lösungsmittel eignet sich grundsätzlich jedes wasserfreie organische Lösungsmittel,
das nicht mit Chlorwasserstoff reagiert und für diesen ein hinreichendes Lösevermögen
30 besitzt. Vorzugsweise wird Dichlormethan als Lösungsmittel eingesetzt.

Das erfindungsgemäss Verfahren kann sowohl mit einer vorbereiteten Lösung von
Chlorwasserstoff als auch mit einer durch Einleiten von gasförmigem Chlorwasserstoff in

einen mit dem Lösungsmittel und dem acyloxylierten Harz (II) beschickten Reaktor *in situ* erzeugten Lösung durchgeführt werden.

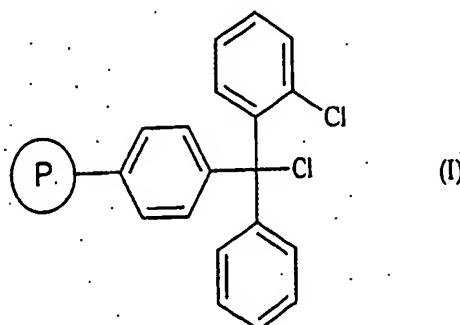
Das folgende Beispiel verdeutlicht die Durchführung des erfindungsgemäßen Verfahrens,
5 ohne dass darin eine Einschränkung zu sehen ist.

Beispiel

In einen Doppelmantelreaktor zur Festphasen-Peptidsynthese (zylindrisches Glasgefäß mit
10 Temperiermantel und Glasfritte im unteren Teil) wurden 5 g trifluoracetoxyliertes Harz (II)
gegeben und mit 20 ml Dichlormethan versetzt. Durch die Fritte wurde zunächst für
10 min Stickstoff geleitet und die Anordnung auf 5 °C gekühlt. Dann wurde durch die
Fritte ein schwächer Chlorwasserstoffstrom geleitet, wobei der aus dem Reaktor
entweichende überschüssige Chlorwasserstoff in Waschflaschen mit Natronlauge
15 absorbiert wurde. Nach ca. 10 min wurde die Lösung abgesaugt und durch frisches
Dichlormethan ersetzt. Anschliessend wurde wiederum für ca. 10 min Chlorwasserstoff
eingeleitet. Dieser Vorgang wurde insgesamt fünfmal durchgeführt. Danach wurde das
Harz unter Stickstoff abgesaugt und über Nacht bei 30 °C getrocknet. Das so erhaltene
polymergebundene 2-Chlortriylchlorid wies in der Bindungskapazität für Aminosäuren
20 keine signifikanten Unterschiede zu dem kommerziell erhältlichen Produkt auf.

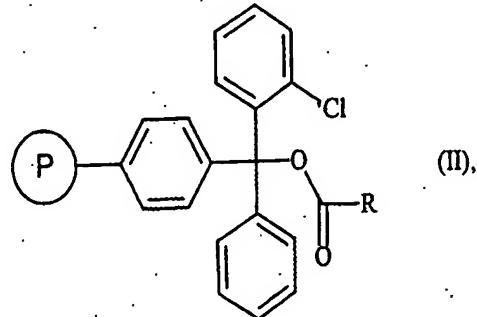
Patentansprüche

1. Verfahren zur Herstellung von polymergebundenem 2-Chlortitylchlorid der Formel



5

worin **P** einen polymeren Träger, vorzugsweise vernetztes Polystyrol, bedeutet,
 dadurch gekennzeichnet, dass der entsprechende Carbonsäureester der Formel



10

worin R eine C₁₋₄-Alkyl- oder C₁₋₄-Haloalkylgruppe bedeutet, mit einer Lösung von Chlorwasserstoff in einem organischen Lösungsmittel behandelt wird.

- 15 2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass R Methyl oder Trifluormethyl ist.
3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass als organisches Lösungsmittel Dichlormethan verwendet wird.

4. Verfahren einem der Ansprüch 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass die Behandlung mehrmals mit frischer Lösung wiederholt wird.
5. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass die Lösung von Chlorwasserstoff im organischen Lösungsmittel *in situ* durch Einleiten von Chlorwasserstoffgas hergestellt wird.
6. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass eine Packung des polymergebundenen Carbonsäuretritylestes (II) mit der Lösung von Chlorwasserstoff im organischen Lösungsmittel perkoliert wird.